DOI:10.11931/guihaia.gxzw201806024

牛角瓜离体快繁技术

苏江，何金祥，冼康华，付传明，黄惠锦，黄宁珍*
（广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室，广西壮族自治区中国科学院
广西植物研究所，广西 桂林 541006）

摘要：该文选用牛角瓜茎段为外植体，通过组织培养试验，探索牛角瓜组织培养和种苗快繁技术。结果表明，最佳外植体表面消毒方法是以 0.1% $HgCl_2$ 处理 7 min，外植体存活率为 32.3%；初代培养基为 MS+ 蔗糖 30 $g·L^{-1}$+ 琼脂 3.5 $g·L^{-1}$，培养 20 d 后形成 3-4 cm 高的再生芽。增殖培养试验前期筛选的较为适宜的增殖培养基为 MS+ 6-BA 1.5 $mg·L^{-1}$+ NAA 0.05 $mg·L^{-1}$+ 蔗糖 30 $g·L^{-1}$+ 琼脂 3.5 $g·L^{-1}$，增殖系数 4.6/25 d。但在后续的培养过程中发现，牛角瓜组培苗易玻璃化，且随着世代更迭，玻璃化程度加重，到了第四代几乎全部玻璃化。因此在上述增殖培养试验的基础上，以 $AgNO_3$ 作为玻璃化抑制剂进行试验，筛选出最终的增殖培养基为 MS+ 6-BA 1.5 $mg·L^{-1}$+ NAA 0.05 $mg·L^{-1}$+ $AgNO_3$ 1.0 $g·L^{-1}$+ 蔗糖 30 $g·L^{-1}$+ 琼脂 3.5 $g·L^{-1}$。用此增殖培养基，培养 25 d，苗高 5-8 cm，增殖系数 5.8 / 25 d，玻璃化率低于 10%，且连续培养多代，玻璃化率维持在 10%以下。生根壮苗培养基为 1/2MS+ NAA 1.0 $mg·L^{-1}$+ 蔗糖 20 $g·L^{-1}$+ 琼脂 3.6 $g·L^{-1}$，培养 14 d，生根率 98%；将生根苗移栽于 70%遮阴度的大棚中，30 天后，苗高 20 cm 左右，成活率 85%。利用该方法可对牛角瓜优良种苗进行规模化生产。

关键词：牛角瓜，组织培养，培养基
中图分类号： Q813.1 文献标识码：A

Rapid propagation technique of *Calotropis gigantea* L. *in vitro*

SU Jiang, HE Jinxiang, XIAN Kanghua, FU Chuanming, HUANG Huijin, HUANG Ningzhen*
（*Guangxi Key Laboratory of plant conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese academy of Sciences,* Guilin 541006 , Guangxi, China）

Abstract: Tissue culture and rapid propagation technique of *Calotropis gigantea* L. was studied by using stem segments as explants in this paper. The results showed that the optimal sterilization

基金项目：广西科技创新能力与条件建设计划项目（2015ED32065）和广西林业科技项目（桂林科研［2015］第 28 号）、广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室自主课题项目（17-259-23）[Supported by the Program of Guangxi Science and Technology Innovation Ability and Condition Construction (2015ED32 065); Program of Guanxi Forestry Science and Technology (［2015］28); Fund of Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain(17-259-23)]。

作者简介：苏江（1988-），男，山东烟台人，硕士，助理研究员，林学专业，（E-mail）731805771@qq.com。
通信作者：黄宁珍，研究员，植物生理生化专业，（E-mail）1499533768@qq.com。

method of explants was to treat 7 min with 0.1% $HgCl_2$, and the survival rate of explants was

32.3%. The suitable primary induction medium was MS+ sucrose 30g·L^{-1}+ ager 3.5 g·L^{-1}. And after 20 d culture, 3-4 cm high regenerative buds were formed. Pre-multiplication culture test showed that MS+ 6-BA 1.5 mg·L^{-1}+ NAA 0.05 mg·L^{-1}+ $AgNO_3$ 1.0 g·L^{-1}+ sucrose 30 g·L^{-1}+ ager 3.5 g·L^{-1} was a suitable multiplication medium, proliferation coefficient was 4.6/25 d. However, during the subsequent cultivation process, using this method the seedlings were easy to vitrify. With the change of generation, the degree of vitrification has been increasing. So inhibition of vitrification was the key to success. Based on the above multiplication culture test, with $AgNO_3$ as a vitrification inhibitor, the suitable multiplication culture medium of MS+ 6-BA 1.5 mg·L^{-1}+ NAA 0.05 mg·L^{-1}+ $AgNO_3$ 1.0 g·L^{-1}+ sucrose 30 g·L^{-1}+ ager 3.5 g·L^{-1} was verified. With this method, 25 d later, seedling height was 5-8 cm, proliferation coefficient was higher than 5.8/25 d and vitrification rate of multiple shoots was lower than 10%. The optimal medium for rooting was 1/2MS+ NAA 1.0 mg·L^{-1}+ sucrose 20 g·L^{-1} + ager 3.6 g·L^{-1}, 14 d later, the rooting rate was 98%. The rooting seedlings were transplanted in the 70% shading greenhouse. And 30 d later, they were about 20 cm high, with 85% survival rate. This method can be used for the large-scale production of excellent clonal seedlings of *Calotropis gigantea* L.

Key words: *Calotropis gigantea*, Tissue culture, medium

牛角瓜（*Calotropis gigantea* L.）为萝藦科牛角瓜属灌木，在我国主要分布于云南、四川、广西和广东等地区，多生长于低海拔向阳山坡、旷野地及海边，其在干热河谷、盐碱地等生境下适应能力较强，可起到改善生态环境的作用。近年来，随着国内外学者对牛角瓜的深入研究，发现了牛角瓜多种应用开发价值。牛角瓜纤维密度为 0.9 g·cm^{-3}，是自然界质量最轻的纤维（Maity et al， 2014）。将牛角瓜纤维与传统棉纤维和木棉纤维的直径、长度和成分对比发现，牛角瓜绒的结构类似于木棉纤维且具有更优良的机械性能，牛角瓜绒与棉的混纺纱能够满足服饰的基本要求（费魏鹤等，2011）。因此，牛角瓜纤维被誉为继棉花纤维又一具有广泛应用前景的新型天然植物纤维（李瑞等，2007；费魏鹤等，2011；高静等，2012；方国平等，2014）。研究证实，牛角瓜全株富含白色乳汁，有毒但具有药用价值。从牛角瓜乳汁中提取的牛角瓜苷等物质具有强心作用（邓士贤等，1962；戴好富等，2009；高柱和王小玲，2011；田湘等，2015）；牛角瓜根及花的提取物具有抗炎、镇痛、退热等作用（Kumar & Basu， 1994；Basu & Nag Chaudhari，1991）；此外，牛角瓜的不同提取物还具有护肝、促进伤口愈合、抗氧化等多种作用（戴好富等，2009）。牛角瓜被称为“石油植物”，其汁液中含有大量碳氢化合物及部分烃类物质，与天然石油成分近似，其汁液中含有多种化学成分，

印度产的牛角瓜植株中油脂含量为4.7%，热值与原煤接近，被认为可用来开发液体燃料和有用化学品（Kalita & Saikia，2004；Sharma et al，1997）。由于牛角瓜生长速度快，每周可长30 cm，能多茬收获，生物量大。因此，作为能源植物开发具有重要意义。综上所述，经过国内外科研工作者的研究证实，牛角瓜在棉纺织领域、医药领域和生物质能源开发领域等都具有重要的应用价值。

野生牛角瓜主要以种子繁殖为主，基于牛角瓜重要的经济价值，应在筛选优良单株的基础上进行无性繁殖，以保持母本的优良性状。常规的无性繁殖方法有扦插、嫁接、组培等，但想要在短时间内进行快速大量的无性繁殖，则组培的方法更为快速有效。虽然牛角瓜组培技术目前已有报道，但研究相对较少，且有两个影响产业效率的主要问题并未解决：一是牛角瓜组培苗增殖系数较低，仅为 3.9/25 d（唐军荣等，2016）；二是牛角瓜组培快繁过程中极易玻璃化，且随着继代次数的增多，玻璃化加重，最终导致负增殖。本发明针对这两方面的问题对牛角瓜组培快繁增殖培养基配方进行研究和改进，得到该方法。

1. 材料与方法

1.1 植物材料

于2015年9月份，采集海南省海尾镇牛角瓜当年生枝条。

1.2 外植体消毒、接种及初代培养

1.2.1 试验方法

以牛角瓜当年生枝条作为外植体，将外植体置于质量浓度为1%的洗洁精水溶液中浸泡10 min，取出后用流水冲洗干净，再置于超净工作台上用体积浓度为 70%的乙醇浸泡60 s，取出后置于质量浓度为0.1%的 $HgCl_2$ 中浸泡灭菌，灭菌时间选取5 、6 、7和8 min 4个水平，最后用无菌水清洗 3~5 次。将经过消毒处理的牛角瓜外植体裁剪成含有1或2个腋芽的茎段，将茎段接种到MS培养基中培养，每个处理30瓶，每瓶接种外植体1个，重复3次，每隔1周观测记录材料的生长状况并剔除污染材料。

1.2.2 培养条件

试验培养温度为（28±3）℃、光照时间为10~12 h/d、光照强度为40 μmol·m^{-2}·s^{-1}。

1.3 牛角瓜无菌芽的增殖培养

1.3.1 试验方法

将初代诱导培养基中获得的无菌幼苗剪成带有1-2个腋芽的茎段，接种于含有不同浓度

配比的 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基中，培养基中用于固化的琼脂 3.5 g·L^{-1}，蔗糖 30 g·L^{-1}，pH 调至 5.8。试验采取正交试验设计，6-BA 取 0.5、1.0、1.5 mg·L^{-1} 三个水平，NAA 取 0.05、0.1、0.15 mg·L^{-1} 三个水平，每组处理接种 60 个茎段，重复 3 次，接种之后，每隔 10 d 观测记录材料的生长情况，培养 25 d 后，统计各个处理的增殖系数、长势（叶片颜色、苗高及茎杆的粗细等）和玻璃化率等。

1.3.2 培养条件

试验培养温度为(28±3) ℃、光照时间为 10~12 h/d、光照强度为 40 μmol·m^{-2}·s^{-1}。

1.4 牛角瓜组培苗玻璃化抑制试验

1.4.1 试验方法

牛角瓜继代增殖培养过程中发现，从第一代开始即出现大量的玻璃化苗，严重影响牛角瓜继代增殖。以上述筛选出的增殖培养基为基础，选用 $AgNO_3$ 作为玻璃化抑制剂进行牛角瓜玻璃化抑制试验。试验设计：$AgNO_3$ 取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg·L^{-1} 五个水平，每组处理接种 60 个茎段，重复 3 次，接种后，培养 25 d，统计各个处理的增殖系数、长势（叶片颜色、苗高及茎杆的粗细等）和玻璃化率等。

利用上述筛选出来的优选培养基进行继代增殖培养，每 25 d 为一代，观测每一代的玻璃化率，以确定此优选配方是否能够稳定抑制牛角瓜组培苗的玻璃化。

1.4.2 培养条件

试验培养温度为(28±3) ℃、光照时间为 10~12 h/d、光照强度为 40 μmol·m^{-2}·s^{-1}。

1.5 牛角瓜组培苗生根培养及炼苗移栽

1.5.1 试验方法

选择增殖培养所得的丛生苗和芽苗为生根材料，转入含有不同浓度 NAA 的 1/2MS 培养基中进行生根培养。培养基中用于固化的琼脂 3.5 g·L^{-1}，蔗糖 30 g·L^{-1}，pH 调至 5.8。试验所用 NAA 取 0.5、1.0、1.5 mg·L^{-1} 三个水平，共设计 3 个处理，每个处理 20 瓶，每瓶接种牛角瓜无根苗 10 株，重复三次得到数据。接种后，培养 14 d，观测统计各处理幼苗的根数、根长、根毛、生根率及植株长势等。

将牛角瓜生根苗置于 70%遮阴度的大棚中炼苗 3-5 d 后，取出并洗净根部培养基，移栽于装有消过毒的移栽基质（沙壤土：腐殖土=2:1)的营养杯（12 cm×12 cm）中，在温室大棚培养 30 d 后，即可移栽大田。

1.5.2 培养条件

牛角瓜组培苗生根培养条件为：温度(28±3)_℃、光照时间 10~12 h/d、光照强度 40 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$。

2. 结果与分析

2.1 外植体消毒、接种与初代培养

牛角瓜外植体经消毒灭菌接种于 MS 培养基，光照培养 3 周后对试验结果进行统计，结果发现，随着升汞灭菌时间的延长，污染率逐渐下降，成活率先上升后下降，升汞处理 7 min 时成活率最高（表 1）。对初代培养形成的幼苗进行观察发现，升汞灭菌 5~7 min，培养 20 d 左右幼苗高度都可以达到 3~4 cm，且植株叶片鲜绿、茎秆相对较粗，能够作为增殖培养的无菌材料；升汞灭菌时间达到 8 min，部分幼苗茎秆纤细，腋芽数少，且叶片发黄。综上所诉，牛角瓜外植体升汞最佳灭菌时间为 7 min。

表 1 不同杀菌时间对外植体成活率的影响

Table 1 Effects of different sterilization time on the survival rate of explants

处理号 Test number	0.1%升汞杀菌时间（min） 0.1%$HgCl_2$ sterilization time	污染率（%） Contamination rate	消毒存活率（%） Survival rate
1	5	65.43a	25.57b
2	6	59.57b	26.33b
3	7	52.47c	32.33a
4	8	42.33d	24.43b

注：同一列不同的小写字母表示0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate that there are significant differences at the 0.05 level between different treaments.

2.2 牛角瓜无菌芽的增殖培养

以 6-BA（0.5-1.5 $mg \cdot L^{-1}$） 与 NAA（0.05-0.15 $mg \cdot L^{-1}$）不同浓度配比进行第 1 代增殖培养，结果显示，在培养 25 d 后，各个处理组的苗高差异不明显（图 1）；增殖系数处理 7（6-BA 浓度 1.5 $mg \cdot L^{-1}$、NAA 浓度 0.05 $mg \cdot L^{-1}$）最大，达到 4.6，且植株健壮，叶片鲜绿，长势强（表 2 和图 1）。从表 2 中还可以看出 9 个处理的玻璃化率都在 30%左右，仅处理 7 与处理 1 有显著差异，但处理 1 的增殖系数明显低于处理 7，因此认为处理 7 的组合为牛角

瓜较为适宜的增殖培养基。

表 2　6-BA 和 NAA 组合对牛角瓜无菌芽增殖系数的影响

Table 2　Effects of combinations of 6-BA and NAA on the proliferation coefficient of *Calotropis gigantea* L.

处理号 Test number	植物生长物质 Plant growth substance		玻璃化率（%） Vitrification rate（%）	增殖系数 Multiplication factor
	6-BA(mg·L^{-1})	NAA(mg·L^{-1})		
1	0.5	0.05	29.4b	2.4d
2	0.5	0.1	34.4a	2.7d
3	0.5	0.15	34.4a	3.3c
4	1.0	0.05	32.2ab	4.0b
5	1.0	0.1	32.2ab	4.1b
6	1.0	0.15	34.4a	3.5c
7	1.5	0.05	33.9a	4.6a
8	1.5	0.1	32.2ab	4.2b
9	1.5	0.15	33.9a	4.1b

注：同一列不同的小写字母表示 0.05 水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate that there are significant differences at the 0.05 level between different treaments.

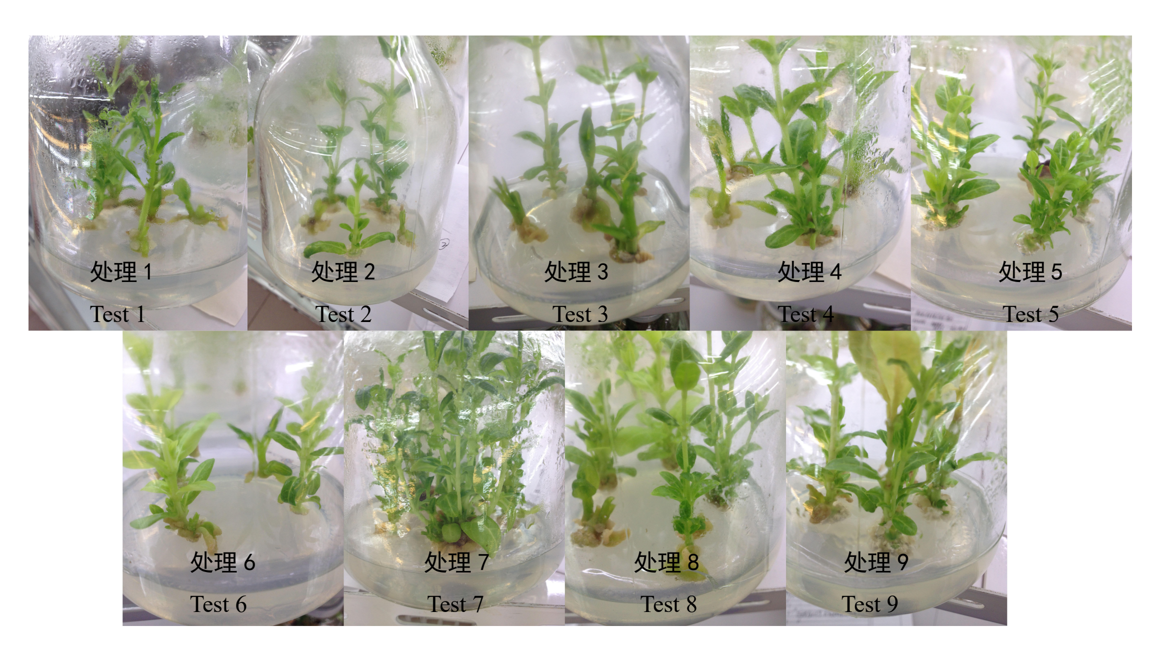


图 1　牛角瓜无菌芽增殖培养表现

Fig.1 Performance of multiplication culture of *Calotropis gigantea* L.

利用上述筛选出的增殖培养基配方 MS+ 6-BA 1.5 mg·L^{-1}+ NAA 0.05 mg·L^{-1} + 蔗糖 30 g·L^{-1}+琼脂 3.5 g·L^{-1}（pH 5.8）对牛角瓜进行增殖扩繁。发现随着继代次数的增多，牛角瓜组培苗玻璃化程度加重（如图 2），扩繁至第 4 代，几乎全部玻璃化，因此抑制牛角瓜组培苗玻璃化是其快繁能否成功的关键。

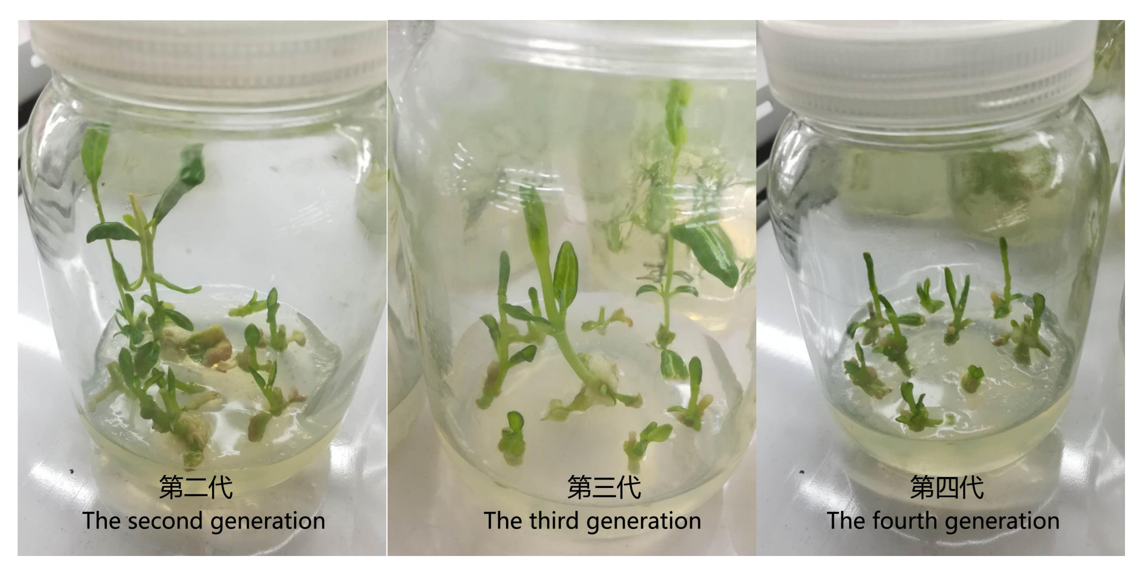


图 2 牛角瓜组培苗玻璃化表现

Fig.2 Performance of vitrification of *Calotropis gigantea* L.

2.3 牛角瓜玻璃化抑制试验

以 MS+ 6-BA 1.5 mg·L^{-1}+ NAA 0.05 mg·L^{-1} + 蔗糖 30 g·L^{-1}+ 琼脂 3.5 g·L^{-1}（pH 5.8）培养基为基础，分别附加 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mg·L^{-1} 的硝酸银作为玻璃化抑制剂，结果发现，在添加硝酸银的培养基中 5 个处理组的玻璃化率都降低到了 10%以下，处理 2、3、4、5 之间差异不显著；增殖系数方面，处理 2 与处理 3 之间差异不显著，两者和其他处理之间差异显著（表 3）。虽然处理 3 的增殖系数更高一些，但是其所得的组培苗，茎秆细弱，叶片卷曲发黄；而处理 2 的植株，茎秆较为粗壮，叶片鲜绿（表 2，图 3）。因此处理 2（MS+ 6-BA 1.5 mg·L^{-1}+ NAA 0.05 mg·L^{-1}+ $AgNO_3$ 1.0g·L^{-1}+ 蔗糖 30 g·L^{-1}+ 琼脂 3.5 g·L^{-1}）为牛角瓜继代增殖的合适培养基。

表 3　$AgNO_3$ 对抑制牛角瓜组培苗玻璃化的影响

Table 3　Effects of $AgNO_3$ on inhibiting vitrification of *Calotropis gigantea* L.

处理号 Test number	$AgNO_3$ (mg·L^{-1})	玻璃化率（%） Vitrification rate（%）	增殖系数 Multiplication factor

1	0.5	8.89a	5.1bc
2	1.0	6.11ab	5.8a
3	1.5	5.56ab	5.93a
4	2.0	5.00b	5.27b
5	2.5	4.44b	4.83c

注：同一列不同的小写字母表示0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate that there are significant differences at the 0.05 level between different treatments.

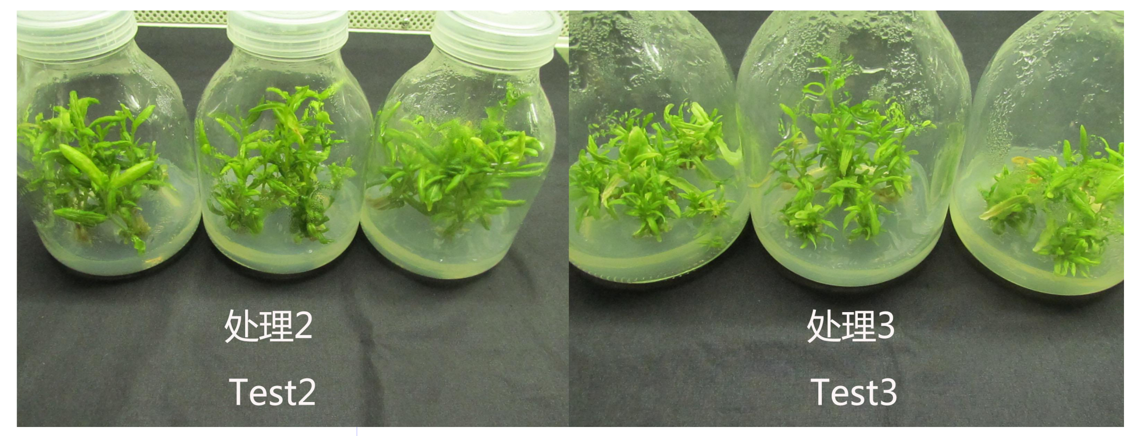


图 3 牛角瓜组培苗玻璃化抑制实验

Fig.3 The experiment on inhibiting vitrification of *Calotropis gigantea* L.

以筛选出的优选增殖培养基 MS+ 6-BA 1.5 mg·L^{-1}+ NAA 0.05 mg·L^{-1}+ $AgNO_3$ 1.0g·L^{-1}+ 蔗糖 30 g·L^{-1}+ 琼脂 3.5 g·L^{-1} 来进行连续多代的增殖培养。从实验结果表 4 可以看出，用此配方进行连续多代的增殖培养，玻璃化率一直维持在 8%以下，增殖系数维持在 5.6/25 d 以上，且各世代之间差异不显著。

表 4 连续的增殖培养

Table 4 Continuous multiplication culture

世代 Generation	玻璃化率（%） Vitrification rate（%）	增殖系数 Multiplication factor
第一代 The first generation	6.11a	5.8a
第二代 The second generation	5.56a	5.93a
第三代	6.67a	5.6a

The third generation		
第四代 The fourth generation	6.11a	5.78a

注：同一列不同的小写字母表示0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate that there are significant differences at the 0.05 level between different treaments.

2.4 牛角瓜生根培养与炼苗移栽

将高度 4-5 cm 的牛角瓜从生芽苗从基部剪下，转入含有不同浓度 NAA（0.5、1.0、1.5 mg·L^{-1}）的 1/2MS 培养基中培养，14 d 后观测结果及计算生根率，结果发现，3 个处理在生根数方面没有显著差异，而在根长和生根率方面都差异显著，处理 2 生根率最高，达到 98%，且在根长与生根数方面都优于另外两个处理（表 5）。因此，确定含有 NAA 1.0mg·L^{-1} 的 1/2MS 培养基为较适宜牛角瓜组培苗生根的培养基，在该培养基中，生根苗健壮，长出的根系洁白、有韧性，利于移栽（图 4）。

将牛角瓜生根苗置于 70%遮阴度的大棚中炼苗 3-5 d 后，取出并洗净根部培养基，移栽于装有消过毒的移栽基质（沙壤土：腐殖土=2:1)的营养杯（12 cm×12 cm）中，在温室大棚培养 30 d 后，苗高可达 20 cm 左右，成活率 85%。

表 5 不同 NAA 浓度对牛角瓜组培苗生根影响

Table 5 Effects of different concentations of NAA on the rooting of *Calotropis gigantea* L.

处理号 Test number	植物生长物质 Plant growth substance NAA(mg·L^{-1})	根长(cm) Root lenth	根的数量(条) Number of root	生根率（%） Rooting rate
1	0.5	4.25b	5.9a	95.0b
2	1.0	5.03a	6.8a	98.0a
3	1.5	4.51b	6.4a	93.0b

注：同一列不同的小写字母表示0.05水平差异显著。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate that there are significant differences at the 0.05 level between different treaments.



图4 牛角瓜生根苗

Fig. Rooting seedlings of *Calotropis gigantea* L.

3. 结论与讨论

该文通过牛角瓜带腋芽的茎段为外植体进行组织培养研究，探索出了一套相对完整的牛角瓜组织培养和种苗快繁技术。牛角瓜外植体在进行消毒灭菌时，适宜的升汞灭菌时间为 7 min，消毒存活率相对较低，为 32.33%。可能的原因是牛角瓜属于多浆植株，新生枝条含有丰富的乳汁且相对柔弱，用升汞进行灭菌时，剪口不易消毒清洗，造成灭菌不彻底，且升汞附着于伤口对植物体造成伤害。

在牛角瓜的继代增殖培养研究中，李克烈等（2007）利用牛角瓜叶片愈伤组织诱导芽分化得到了较多的丛生芽；唐军荣等（2016）利用牛角瓜顶芽为外植体进行培养，增殖系数最高为 3.9/25 d。参考二者的研究，该文对增殖培养配方进行了筛选和优化，通过连续的多代培养试验证实，利用此配方进行牛角瓜的增殖快繁，增殖系数一直维持在 5.6/ 25 d 以上，相比于二者，增殖系数有了明显的提高。另外，在牛角瓜增殖快繁过程中发现，未加入玻璃化抑制剂时，牛角瓜组培苗极易玻璃化，在实验过程中，仅培养到第四代，几乎全部因为玻璃化而死亡。针对这一问题，该研究利用硝酸银作为玻璃化抑制剂，研究筛选 MS+6-BA 1.5 mg·L^{-1}+NAA 0.05 mg·L^{-1}+AgNO3 1.0 mg·L^{-1} +蔗糖 30 g·L^{-1}+琼脂 3.6 g·L^{-1} 为适宜的增殖培养基。此配方在未加入硝酸银时，增殖系数已能够达到 4.6 / 25 d；添加 1.0 mg·L^{-1} 的硝酸银后，玻璃化率由 33.9%降低到了 6.11%，增殖系数由 4.6 / 25 d 增加到了 5.8 / 25 d，且连续多代培养，玻璃化率一直维持在 8%以下，各世代之间差异不显著。应用此方法解决牛角瓜组培苗易玻璃化的同时维持牛角瓜增殖培养较高的增殖系数，为牛角瓜高效低成本的种苗组培快繁创造了有利条件。

在对牛角瓜组培苗生根培养过程中发现，在含 NAA 的生根培养基中培养 14 d，根长

可达 4~5cm、生根数为 5~8，生根率 98%，但在移栽过程中发现，牛角瓜组培苗根系相对柔弱、根毛少，在进行清洗时很容造成断裂，这可能是影响后期移栽成活率的主要原因。因此，在进行生根培养时，在保证牛角瓜生根率的同时，应采取合适的方法健壮牛角瓜根系。

参考文献：

BASU A and CHAUDHURI AK, 1991. Preliminary studies on the antiinflammatory and analgesic activities of *Calotropis procera* root extract[J]. J Ethnopharmacol , 31(3): 319-324.

DAI HF, WANG MY, MEI WL, et al, 2009. Research progress on phemical components and pharmacological pctivities of *Calotropis* R. Br[J]. J Henan Agric Univ (Med Sci), 28(01): 1-7.[戴好富，王茂媛，梅文莉，等，2009. 牛角瓜属植物化学成分与药理活性研究进展[J]. 河南大学学报(医学版)，28(01)：1-7.]

DENG SX, WANG MD, WANG DC, 1962. The cardiac effect and biological potency of calotropin[J]. Acta Pharm Sinica, (11) : 667-670.[邓士贤，王懋德，王德成，1962. 牛角瓜甙的强心作用及其生物效价[J]. 药学学报，(11) ： 667-670.]

FANG GP and HU HM, 2014. Akund fiber and its application in knitting[J]. Knitting Indus，(05): 26-30.[方国平，胡惠民，2014. 牛角瓜纤维及其在针织领域应用初探[J]. 针织工业，(05)：26-30.]

FEI WH, HU HM, LI X, et al, 2011. Study on the structure and property of akund fiber[J]. China Fiber Inspect, (07): 80-83.[费魏鹤，胡惠民，李璇，等，2011. 牛角瓜纤维的结构与性能研究[J]. 中国纤检，(07)：80-83.]

GAO J, ZHAO T, CHEN JB, 2012. Composition, structure and property analysis of *Calotropis gigantea* L., kapok and cotton Fibers[J]. J Donghua Univ (Nat Sci Ed), 38(02): 151-155.[高静，赵涛，陈建波，2012.牛角瓜、木棉和棉纤维的成分、结构和性能分析[J]. 东华大学学报(自然科学版)，38(02)：151-155.]

GAO Z and WANG XL, 2011. Study on the development value and cultivation techniques of

Calotropis Gigantea L.[J]. Northern Hortic, (18): 202-206.[高柱，王小玲，2011. 牛角瓜开发价值及栽培技术研究[J]. 北方园艺，(18)：202-206.]

KALITA D and SAIKIA CN, 2004. Chemical constituents and energy content of some latex bearing plants[J]. Bioresour Technol, 92(3) : 219-227.

KUMAR VL and BASU N, 1994. Anti-inflammatory activity of the latex of *Calotropis procera*[J]. J Ethnopharmacol, 44(2): 123-125.

LI KL, LUO LZ, CHEN W, et al, 2007. Tissue culture of *Calotropis Gigantea*[J]. J Guangxi Agric, boil Sci, 26(03): 247-249.[李克烈，罗联忠，陈伟等，2007. 牛角瓜的组织培养[J]. 广西农业生物科学，26(03) ： 247-249.]

LI R, ZENG JL, WANG XD, et al, 2007. Energy-produced components in *Calotropis Gigantea* L. [J]. Chin J Proc Eng, (6): 1217-1220.[李瑞，曾建立，王晓东，等，2007. 耐盐碱植物牛角瓜产能成分分析[J]. 过程工程学报，6：1217-1220.]

MAITY S, MOHAPATRA HS, CHATTERJEE A, et al, 2014. The new generation natural fiber-akund floss[J]. Melliand China, 42(7): 6-8.[MAITY S, MOHAPATRA HS, CHATTERJEE A, et al, 2014. 新一代天然纤维：牛角瓜绒[J]. 国际纺织导报，42(07)： 6-8.]

SHARMA DK, TIWARI M, ARORA M, et al, 1997. Microbial transformation and biodegradation of *Calotropis procera* latex towards obtaining value added chemicals, pharmaceuticals and fuels[J]. Liq Fuels Technol, 15(1-2): 137-169.

TANG RJ, LI B, LIU HM, et al, 2016. A study on rapid propagation technology for *Calotropis Gigantea* in vitro [J]. J Yunnan Agric Univ(Nat Sci), 31(04) : 658-663.[唐军荣，李斌，刘惠民等，2016. 牛角瓜离体快繁技术研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学)，31(04) ： 658-663.]

TIAN X, YAN L, TANG D, et al, 2015. Research hot spot and trend of development about the “Versatile Bush” *Calotropis Gigantea* L.[J]. J Shanxi Agric Sci, 43(08) : 1061-1064.[田湘，严理，唐丹，等，2015. “全能灌木”牛角瓜研究热点及发展趋势[J]. 山西农业科学，43(08)：1061-1064.]